

Trichoderma 菌の農薬に対する耐性に関する研究

渡 辺 直 道

(昭和59年 1 月 31 日受理)

Experimental study on tolerance of *Trichoderma* fungi
to agricultural chemicals

Naomichi WATANABE

Summary

For the purpose of application of *Trichoderma* fungus by means of integrated pest management, it is necessary to investigate susceptibility of *Trichoderma* fungi for various agricultural chemicals. As a result on investigated susceptibility of *T. viride* (IAM 5141), *T. harzianum* (IFO 30543), *T. polysporum* (IFO 9322) and *T. viride* (30498), for Benlate, Cupravite-Forte, Daconil, Maneb-Dithane M, Orthocide, Pentagen, Rovral, Streptomycin sulfate, Topsin M and Denapon, *Trichoderma* fungi were the highest susceptible for Topsin M, with *T. viride* (IAM 5141), *T. harzianum* (IFO 30543) and *T. viride* (IFO 30498) being unable to grow on a 10 ppm concentration of Topsin M. Secondly, they were higher susceptible to Benlate, and *T. viride* (IAM 5141) on a 10 ppm concentration, *T. harzianum* (IFO 30543) and *T. viride* (IFO 30498) on a 100 ppm concentration of Benlate were unable to grow. Thirdly, *Trichoderma* fungi were high susceptible for maneb-Dithane M, and then *T. viride* (IAM 5141), *T. polysporum* (IFO 9322) were unable to grow on a 100 ppm concentration. Susceptibility of *Trichoderma* fungi for agricultural chemicals differed according to the species or strains.

緒 言

農薬による環境汚染に対する警告が出されて久しく、また植物病害の生物的防除の必要性が叫ばれて久しいが、いまだ満足な成果があがっていないのが現実である。生物的防除剤として、植物病原菌に対して拮抗作用のある *Trichoderma* 菌について、近年、多種多様な研究が行われている。本菌の拮抗作用の作用機作⁽¹⁾⁽⁵⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾についての研究、増殖と媒体⁽²⁾⁽⁶⁾に関する研究がある。I. Chet ら⁽⁷⁾⁽¹⁰⁾の研究によれば発病抑制土壌の機構を調査し、この抑制土壌から *T. ham-*
tum を分離した、この菌はエンドウの *pythium* 病や菜豆の白絹病をよく防除し、この作用機作は *Trichoderma* 菌が細胞壁分解酵素である β -(1-3) glucanase と chitinase を放出し、

Rhizoctonia solani, *Pythium* spp., *Sclerotium rolfii* などの病原菌を攻撃することを明らかにした。また抑制土壌は酸性 PH レベルであることを明らかにし、*Trichoderma* 菌は *R. solani* より酸性を好み、酸性土壌は *Trichoderma* 菌の胞子の発芽、菌糸の伸長、分生子柄の形成などを刺激した。また D. K. Bell ら¹⁴⁾ の各種病原菌と *Trichoderma* 菌の拮抗作用の研究もある。圃場における防除試験の例では、H. D. Wells ら¹⁵⁾ が *Sclerotium rolfii* の菌核から分離した *T. harzianum* を使用して、トマト苗の白絹病をよく防除し、W. D. Kelley ら³⁾ は糖蜜を添加した粘土粒子に培養した *T. harzianum* を使用して、マツ苗の立枯病をよく防除した。そして Y. Elad ら⁹⁾ は菜豆を栽培した圃場に *T. harzianum* を添加して、イチゴの苗立枯病を92%減少させた、またイチゴ苗に *T. harzianum* を処理することによって21~37%の増収を報告している。G. E. Harman ら⁸⁾¹²⁾²⁰⁾ はエンドウとダイコンの種子を泥漿を用いて *T. hamatum* の胞子を処理して、播種したら *Pythium* 菌や *Rhizoctonia* 菌による種苗病をよく防除できることを明らかにした、そして *R. solani* の細胞壁や泥炭を添加すると、*T. hamatum* の防除効果や増殖が高まることを報告した。また *T. hamatum* のエンドウ種子処理の効果における活生鉄分の役割について詳細に述べている。J. H. Andrews ら¹⁸⁾ は空気伝染性病害であるリンゴの黒星病菌 (*Venturia inaequalis* Winter) に数種の拮抗菌と *T. viride* を作用させたところ、*T. viride* の拮抗作用は上位にランクされることを報告した、しかしこの結果は *in vitro* の試験であった。空気伝染性病害防除に適用するとき、茎葉上に散布された *Trichoderma* 菌の日照に対する耐性とか、栄養、繁殖、生存率などの問題が考えられる。以上のような多くの研究報告があるが、*Trichoderma* 菌のみで植物病害を完全に防除することは難かしい、それは寄生者と寄主の間では、寄主を根絶しない間柄にあるからである。それゆえ *Trichoderma* 菌を総合防除の一素材と考えれば、将来有望なものと思われる。拮抗菌を農薬と交互または混合して施用するとき、拮抗菌が農薬に対して感受性が低いことが都合がよく、生存や増殖に欠かせないことである。G. C. papavizas ら¹³⁾¹⁹⁾ は紫外線照射によってベノミル剤、チャペンダゾール (*Mertect*)、チオハネートメチル剤 (*Topsin M*) に対して耐性の *T. harzianum* を誘導し、T. H. Abd-El Moity ら¹⁵⁾ はクロロタロニール剤 (*Daconil*)、プロシミドン剤 (*Sumilex*)、イプロデオン剤 (*Roural*)、ビンクロゾリン剤 (*Ronilan*) の各溶液に *T. harzianum* の菌糸や分生胞子を浸漬することによって、これらの薬剤に耐性の菌株を選抜し、これらの耐性菌はタマネギの白腐病をよく防除したことを報告している。

Trichoderma 菌の農薬に対する感受性に関する研究例は少なく、また調査された農薬の数も少ない。拮抗菌も上に記したように *T. harzianum* のみについてしか報告はない。それで本研究では *Trichoderma* 菌4種と10種類の農薬を用いて、各菌が各農薬のどのような濃度まで生存できるかを試験し、検討した。その結果を報告する。

材 料 と 方 法

供試した拮抗菌は *T. viride* (IAM 5141), *T. harzianum* (IFO 30543), *T. polysporum* (IFO 9322), *T. viride* (IFO 30498) の4種類であり, また供試した農薬はベンレート, クブラビットホルテ, ダコニール, マンネブダイセンM, オーソサイド, ペンタゲン, ロブラール, ストレプトマイシン, トップジンM, デナポンの10種類であり, 各農薬の化学名, 有効成分量などについては第1表に示した。農薬は PSA 培地に 10, 100, 1,000, 10,000, 50,000 の各 ppm

Table 1. Agricultural chemicals used for the experiment.

Trade name	Chemical name	Content of component
Benlate	Methyl-1--(butylcarbamoyl)-2-benzimidazole-carbamate	50%
Cupravit-Forte	Dicopper trihydroxide chloride	73.5%
Daconil	Tetrachloroisophtalonitrile	75%
Maneb-Dithane M-22	Manganese ethylenebis (dithiocarbamate)	75%
Orthocide	N-(Trichloromethylthio)-4-cyclohexene-1,2-dicarboximide	80%
Pentagen	Pentachloronitrobenzene	20%
Rovral	3-(3,5-Dichlorophenyl)-N-isopropyl-2,4-dioxoimidazoline-1-carboxamid	50%
Streptomycin sulfate	Streptomycin sulfate	800 µg/mg (potency)
Topsin M	1,2-Di-(3-methoxycarbonyl-2-thioureid) benzene	70%
Denapon	1-Naphtyl methylcarbamates	5%

Table 2 Growth degree of Trichoderma fungi in each temperature

Trichoderma fungi	temperature				
	11°C	19°C	25°C	32°C	37°C
<i>T. viride</i> IAM 5141	* +	++++	++++	—	—
<i>T. harzianum</i> IFO 30543	+	++++	++++	—	—
<i>T. polysporum</i> IFO 9322	+	+++	+++	—	—
<i>T. viride</i> IFO 30498	+	++++	++++	++++	—

* 7 day after incubation on PSA medium

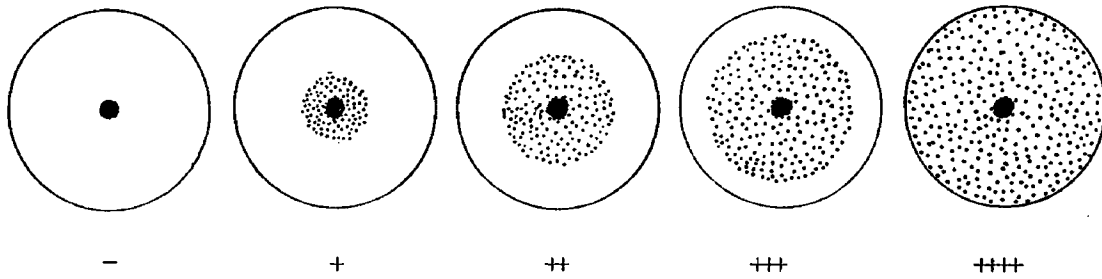


Fig. 1 Index of growth degree of *Trichoderma* fungi

— : Colony of *Trichoderma* fungi was unable to grow at all. + : Diameter of colony was less than 30 mm. ++ : Diameter of colony was more than 30 mm and below 50 mm. +++ : Diameter of colony was more than 50 mm and less than 70 mm. ++++ : Colony Diameter was 70 mm or more.

濃度に混入し、90×15 mm の滅菌したペトリシャーレに 20 ml ずつ入れ、平板培地とした。予め平板培地に 5 日間培養した *Trichoderma* 菌の菌叢の周囲を直径 5 mm のコルクボーラで切り抜き、このプラグを種菌として農薬混入平板培地の中心に植菌して、5 日間培養した。培養温度は第 2 表に示めしたように 19~25°C の範囲で生育がよかったので、22~24°C で行った。生育した菌叢の径を測定して、各農薬に対する感受性を調査した。生育程度の表示の指標を第 1 図に示すように、菌叢が全然生育しないものを (—) とし、径が 30 mm 以下のものを (+), 30 mm 以上で 50 mm 以下のものを (++)、50 mm 以上で 70 mm 以下のものを (+++), 70 mm 以上のものを (++++) とした。全ての実験区は 5 連制で 2 反復行い、それらの平均値を表示した。

結 果

各農薬に対する *Trichoderma* 菌の感受性は第 3 表、第 4 表の通りである。ベンレートに対しては *T. viride* (IAM 5141) が最も感受性が高く、10 ppm 以上の濃度で生育が停止し、次いで *T. harzianum* と *T. viride* (IFO 30498) が 100 ppm 以上で *T. polysporum* は 10,000 ppm 以上で停止した。クブラビットホルテに対しては *T. polysporum* は 10,000 ppm 以上で生育が停止したが、*T. viride* (IAM 5141)、同 (IFO 30498) と *T. harzianum* は 50,000 ppm でもわずかに生育した。ダコニールに対しては *T. polysporum* が最も感受性が高く、100 ppm 以上で、次いで *T. viride* (IAM 5141) が 1,000 ppm 以上で、*T. harzianum* と *T. viride* (IFO 30498) は 50,000 ppm でそれぞれ生育が停止した。マンネブダイセン M に対しては *T. viride* (IAM 5141) と *T. polysporum* が最も感受性が高く 100 ppm 以上で、次いで *T. viride* (IFO 30498) が 1,000 ppm 以上で、*T. harzianum* が 10,000 ppm 以上でそれぞれ停止した。オーソサイドに対しては *T. polysporum* が最も感受性が高く 1,000 ppm で、次いで *T. viride* (IAM 5141) が 10,000 ppm 以上で、*T. harzianum* と *T. viride* (IFO 30498) は 50,000

Trichoderma 菌の農薬に対する耐性に関する研究

Table 3 Susceptibility of Trichoderma fungus to various agricultural chemicals.

Name of agricultural chemicals	Trichoderma fungi	Treatment (ppm)					
		control	10	100	1,000	10,000	50,000
Benlate	T. viride IAM 5141	++++	-	-	-	-	-
	T. harzianum IFO 30543	++++	++	-	-	-	-
	T. polysporum IFO 9322	++++	++	+	+	-	-
	T. viride IFO 30498	++++	+	+	-	-	-
Cupravit-Forte	T. viride IAM 5141	++++	++++	+++	+	+	+
	T. harzianum IFO 30543	++++	++++	++++	+++	++	+
	T. polysporum IFO 9322	++++	++++	++	+	-	-
	T. viride IFO 30498	++++	++++	++++	++++	+++	+
Daconil	T. viride IAM 5141	++++	+	+	-	-	-
	T. harzianum IFO 30543	++++	++++	+++	++	+	-
	T. polysporum IFO 9322	++++	+++	-	-	-	-
	T. viride IFO 30498	++++	+++	+++	++	+	-
Maneb-Dithane M	T. viride IAM 5141	++++	+++	-	-	-	-
	T. harzianum IFO 30543	++++	++++	++	+	-	-
	T. polysporum IFO 9322	++++	+++	-	-	-	-
	T. viride IFO 30498	++++	++++	+++	-	-	-
Orthocide	T. viride IAM 5141	++++	+	+	+	-	-
	T. harzianum IFO 30543	++++	++	+	+	+	-
	T. polysporum IFO 9322	++++	+++	-	-	-	-
	T. viride IFO 30498	++++	++++	++	++	+	-

ppm でそれぞれ停止した。ペンタゲンに対しては T. viride (IAM 5141) が最も感受性が高く、100 ppm 以上で、T. harzianum が 50,000 ppm で生育が停止した。T. polysporum と T. viride (IFO 30498) は 50,000 ppm でも生育が認められた。ロブラールに対しては T. viride (IAM 5141) が最も感受性が高く 1,000 ppm 以上で、次いで T. polysporum が 10,000 ppm 以上で、T. harzianum が 50,000 ppm で生育が停止した。T. viride (IFO 30498) は 50,000 ppm でもわずかに生育した。ストレプトマイシンに対しては T. polysporum が最も感受性が高く、1,000 ppm で、T. viride (IAM 5141) と T. harzianum は 50,000 ppm でそれぞれ生育が停止した。T. viride (IFO 30498) は 50,000 ppm でわずかに生育した。トップジンMに対して全ての菌は感受性が高く、T. viride (IAM 5141)、T. harzianum、そして T. viride (IFO 30498) は 10 ppm 以上で生育が停止し、T. polysporum は 10,000 ppm 以上で停止した。デナボンに対しては T. harzianum が最も感受性が高く 100 ppm 以上で、T. viride (IAM 5141) と T. polysporum は 10,000 ppm 以上で生育が停止した。T. viride (IFO 30498) は 50,000 ppm でわずかに生育があった。以上の結果を総合してみると、Trichoderma 菌はトップジンMに対して最も感受性が高く、次いでベンレート、マンネブダイセンM、ダコニールの順であった。

Table 4 Susceptibility of *Trichoderma* fungus to various agricultural chemicals.

Name of agricultural chemicals	Trichoderma fungi	Treatment (ppm)					
		control	10	100	1,000	10,000	50,000
Pentagen	T. viride IAM 5141	++++	+	—	—	—	—
	T. harzianum IFO 30543	++++	+++	+++	++	++	—
	T. polysporum IFO 9322	++++	++++	+++	+++	++	++
	T. viride IFO 30498	++++	+++	++	+	+	+
Rovral	T. viride IAM 5141	++++	++	—	—	—	—
	T. harzianum IFO 30543	++++	+++	+++	+++	+	—
	T. polysporum IFO 9322	++++	++++	++	+	—	—
	T. viride IFO 30498	++++	+++	++	++	+	+
Strepto-mycin sulfate	T. viride IAM 5141	++++	++++	++++	++++	++	—
	T. harzianum IFO 30543	++++	++++	++++	++++	++	—
	T. polysporum IFO 9322	++++	++++	++++	—	—	—
	T. viride IFO 30498	++++	++++	++++	++++	+++	+
Topsin M	T. viride IAM 5141	++++	—	—	—	—	—
	T. harzianum IFO 30543	++++	—	—	—	—	—
	T. polysporum IFO 9322	++++	+++	+	+	—	—
	T. viride IFO 30498	++++	—	—	—	—	—
Denapon	T. viride IAM 5141	++++	++++	++	+	—	—
	T. harzianum IFO 30543	++++	++	—	—	—	—
	T. polysporum IFO 9322	++++	++	++	++	—	—
	T. viride IFO 30498	++++	+++	++	++	+	+

また逆に感受性が低かったものはクプラビットホルテで、次いでペンタゲン、ストレプトマイシンの順であった。

考 察

ここでは4種類の *Trichoderma* 菌が10種類の農薬に対してどのような感受性を示すかを試験したのであるが、農薬の分解物が共に MBC (methyl-2-benzimidazol carbamate) になるといわれているトップジンMとベンレートに対して4菌種共に感受性が高く同じ傾向を示した。使用に当っては十分注意をしなければならない。また逆に感受性が低かった農薬としてクプラビットホルテ、ペンタゲン、ロブラール、ストレプトマイシンなどがあげることができ、この結果から土壌伝染性病害の防除にペンタゲンまたはロブラールと *Trichoderma* 菌との交互ならびに混合施用の実用化が可能であるように考えられる。抗細菌剤であるストレプトマイシンに対して感受性が低かったのは当然であるが、これは *Trichoderma* 菌を大量に増殖させるとき媒体(培地)に添加しておくことによって細菌の繁殖を抑え、*Trichoderma* 菌の初期生育を良好にす

るのに都合がよいものと思われる。作物の保護管理を行うとき、省力作業として殺菌剤と殺虫剤を同時施用することがあり、このような理由で殺虫剤であるデナボンに対する *Trichoderma* 菌の感受性を試験したのであるが、*T. harzianum* は 100 ppm で生育が停止し、最も感受性が高く、菌種によって相違があった。殺虫剤といっても薬剤の種類にもよるが濃度を高くして施用するときは注意を要する。将来、*Trichoderma* 菌を茎葉散布剤として適用を考え、一般に茎葉散布剤として使われている数種の農薬を取り上げて、その感受性を試験したのであるが、クブラビットホルテ、ストレプトマイシン、ダコニールなどに対しては感受性が低く、菌種と濃度の組み合わせによっては混合使用も可能であるようだ。しかし茎葉上に散布された *Trichoderma* 菌が葉面上で生存、増殖しなければ、その効力を発揮することができないが、日射による耐性、温度・湿度・PH, などの状態、栄養の有無などの問題がある、日射の対策として、これを防ぐ菌体被覆材の開発が望まれる、また *Trichoderma* 菌は好気性菌であるので環境が少し乾燥しているほうが生存に都合がよいように予想される。栄養については葉面上の他の菌類を摂取することが考えられるが、散布された *Trichoderma* 菌が当分生存できるだけの養分を菌体と一緒に散布することが考えられる。また今後の問題として、総合防除剤に適した *Trichoderma* 菌であるための農薬に対して感受性の低い菌株の選抜や誘導が望まれるし、最近、選択性農薬の使用によって増加している薬剤耐性の植物病原菌の防除対策として *Trichoderma* 菌の活用も考えられる。

本試験はペトリ皿中で行なったので、*Trichoderma* 菌に対しては大変きびしい環境であるが実際に圃場で土壌病害の防除を目的として施用したときには生存に有利であるように思われる。それは、土壌中では適度の水分と温度が保たれているし、栄養となる他の多くの菌類や有機質の存在が推測される。そして一緒に施用された農薬は速やかに土壌粒子や水分に吸着されると考えられるので農薬との共存はペトリ皿中よりも有利と思われる。従って総合防除剤として農薬と一緒に *trichoderma* 菌を土壌病害防除剤として施用したとき、その拮抗作用を発揮し、防除効果も高まるものと思われる。

摘 要

Trichoderma 菌を総合防除の一素材として適用するために、*T. viride* (IAM 5141), *T. harzianum* (IFO 30543), *T. polysporum* (IFO 9322), *T. viride* (IFO 30498) の 4 種類を供試して、ベンレート、クブラビットホルテ、ダコニール、マンネブダイセンM、オーソサイド、ペンタゲン、ロブラール、ストレプトマイシン、トップジンM、デナボンの 10 種類の農薬に対して感受性を調査した。その結果、トップジンMに対して最も感受性が高く、*Trichoderma* 菌の 3 種類は 10 ppm の添加で生育が停止した。次いでベンレートに対して感受性が高く、3 種類は 100 ppm の添加で生育が停止した。またストレプトマイシン、クブラビットホルテ、ペンタ

ゲン、ロブラルなどに対して感受性は低く、1,000 ppmの添加にもかかわらず生育が認められた。Trichoderma 菌の農薬に対する感受性は菌種または菌株の相違によって異っていた。

引用文献

- 1) Homer D. Wells, Durham K. Bell, and Casimir A. Jaworski : (1972) *phytopathology* **62** : 442—447.
- 2) P. A. Backman and R. Rodriguez-Kabana : (1975) *ibid.* **65** : 819—821.
- 3) W. D. Kelley : (1976) *ibid.* **66** : 1023—1027.
- 4) C. J. Baker, C. H. Whalen, and D. F. Bateman : (1977) *ibid.* **67** : 1250—1258.
- 5) Y. Hader, I. Chet, and Y. Henis : (1979) *ibid.* **69** : 64—68.
- 6) Y. Elad, I. Chet, and J. Katan : (1980) *ibid.* **70** : 119—121.
- 7) Ilan Chet and Ralph Baker : (1980) *ibid.* **70** : 994—998.
- 8) G. E. Harman, I. Chet, and R. Baker : (1980) *ibid.* **70** : 1167—1172.
- 9) Y. Elad, I. Chet, and Y. Henis : (1981) *plant and soil* **60** : 245—254.
- 10) Ilan Chet and Ralph Baker : (1981) *phytopathology* **71** : 286—290.
- 11) K. T. Smith, R. O. Blanchard, and W. C. Shortle : (1981) *ibid.* **71** : 496—498.
- 12) G. E. Harman, I. Chet, and R. Baker : (1981) *ibid.* **71** : 569—572.
- 13) G. C. Papavizas, J. A. Lewis, and T. H. Abd-El Moity : (1982) *ibid.* **72** : 126—132.
- 14) D. K. Bell, H. D. Wells, and C. R. Markham : (1982) *ibid.* **72** : 379—382.
- 15) T. H. Abd-El Moity, G. C. Papavizas, and M. N. Shatla : (1982) *ibid.* **72** : 396—400.
- 16) Y. Elad, I. Chet, and Y. Henis : (1982) *Can. J. Microbiol* **28** : 719—725.
- 17) Y. Elad, I. Chet, P. Boyle, and Y. Henis : (1983) *phytopathology* **73** : 85—88.
- 18) John H. Andrews, Flora M. Berbee, and Erik V. Nordhein : (1983) *ibid.* **73** : 228—234.
- 19) G. C. Papavizas and J. A. Lewis : (1983) *ibid.* **73** : 407—411.
- 20) J. P. Hubbard, G. E. Harman, and Y. Hadar : (1983) *ibid.* **73** : 655—659.
- 21) Y. Henis, P. B. Adams, J. A. Lewis, and G. C. Papavizas : (1983) *ibid.* **73** : 1043—1046.
- 22) Y. Henis and G. C. Papavizas : (1983) *ibid.* **73** : 1469—1474.